Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. Zeiß

Über die künstliche Färbung von Hühnereidottern durch Verfütterung von Sudanfarbstoffen und die Beeinflussung der Keimfähigkeit durch den eingelagerten Farbstoff

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Medizinischen Doktorgrades

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität in Berlin

vorgelegt von

ALFRED ASSHOFF

aus Dortmund-Wellinghofen

Tag der Promotion: 5. Dezember 1939

Buchdruckerei Franz Linke, Berlin NW 7, Marienstr. 13

Gedruckt mit Genehmigung
der
Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. L. Kreuz
Referent: Prof. Dr. Zeiß

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meiner lieben Mutter gewidmet

Der natürliche Dotterfarbstoff, der dem Eigelb seine schöne tiefgelbe Farbe verleiht, ist nicht einheitlicher Natur, sondern im wesentlichen ein Gemisch von Xantophyll und Zeaxanthin. Xantophyll, das überwiegt, wird auch als Lutein bezeichnet, ein Ausdruck, der früher als Sammelbegriff für Dotterfarbstoffe diente. Außer Lutein und Zeaxanthin sind im Dotter der Hühnereier Carotin und Vitamin A, das als Spaltungsprodukt des Carotins aufzufassen ist, enthalten, ferner in sehr geringer Menge ein weiterer Farbstoff anderer Art, das Ovoflavin, das mit Vitamin B 2 in naher Beziehung steht. Die gelbe Dotterfarbe wird also im wesentlichen durch Lutein, Zeaxanthin und Carotin hervorgerufen, da Vitamin A farblos ist und Ovoflavin wegen seiner geringen Menge als farbgebender Bestandteil praktisch nicht in Betracht kommt.

Alle diese Stoffe vermag die Henne in ihrem Organismus nicht aufzubauen. Sie ist vielmehr auf Zufuhr derselben durch die Fütterung, vor allem durch die sogenannte Grünfütterung, angewiesen. In Deutschland werden allgemein Eier mit dunklem, farbreichen Dotter bevorzugt, weil der Verbraucher geneigt ist, aus einer tiefen Färbung der Eidotter auf eine gute und reichliche Grünfütterung und damit auf einen großen Vitamingehalt zu schließen.

Da nun in den Hühnerfarmen durch die dort übliche Fütterung die Dotter blasser, als vom Verbraucher gewünscht, ausfallen, werden in neuerer Zeit von der Industrie Futtermittel für Hühner angeboten, die durch ihren Gehalt an fettlöslichen Teerfarbstoffen eine gelbrote Färbung der Eidotter erzielen sollen. Diese fettlöslichen künstlichen Farbstoffe der Sudanreihe sind nach chemischer Konstitution und Herkunft von den natürlichen Dotterfarbstoffen wesentlich verschieden. Vor allem können sie nicht den Vitamingehalt des Hühnereies verbessern. Großfeld und Kanitz sehen daher die Färbung der Dotter mit Teerfarbstoffen als Verfälschung an, auch wenn sie infolge der peroralen Verabreichung an die Hühner über den Organismus läuft.

Fütterungsversuche an Hühnern, die von Großfeld und Kanitz durchgeführt wurden, hatten gezeigt, daß bei zwangsweiser Verfütterung geeigneter fettlöslicher Teerfarbstoffe diese im Dotterfett der gewonnenen Eier in Form konzentrischer Farbschalen abgelagert wurden, wenn der gesamte Farbstoff einmal am Tage zwangsweise verfüttert wurde. Es schien hier eine elegante Methode zur

Erforschung des Fettstoffwechsels des keimenden Huhnembryos gegeben zu sein. Bei Bebrütung der den Farbstoff enthaltenden Eier mußte ersichtlich werden, wie der Keimling diese ihm über den Körper des Muttertieres zugeführten und seinem Fett angelagerten Fremdkörper verarbeitete, und es war weiter nachzuprüfen, ob diese schalenweise Farbstoffablagerung für die Erforschung des Ausbildungsvorganges des Eidotters im Eierstock herangezogen werden konnte. In der vorliegenden Arbeit sollte der Anregung von Großfeld und Kanitz gemäß untersucht werden, ob mit dieser Farbstoffütterung irgend welche Beiträge zum Fettstoffwechsel des wachsenden Keimlings oder neue Erkenntnisse in der Entwicklungsgeschichte zu erhalten waren.

Experimenteller Teil.

Zu den Untersuchungen stand ein Hühnervolk, bestehend aus einem Hahn und 6 Legehühnern, zur Verfügung. Die Tiere wurden in einem großen Auslaufstall frei gehalten. Das Futter bestand aus käuflichem Körnermischfutter und Grünfutter. Als Teerfarbstoff diente Sudan Rot B besonders rein, der auch von Großfeld und Kanitz benutzt wurde. In gleicher Versuchsordnung wurden von diesem Farbstoff 10 g in 200 ccm Erdnußöl aufgeschlämmt; eine vollständige Lösung wurde nicht erreicht. Jedes Huhn erhielt täglich zwischen 8 und 10 Uhr 2 ccm von dieser Aufschlämmung, entsprechend 100 mg Farbstoff, mit Hilfe einer Spritze in Zwangsfütterung verabreicht. Die Farbstoffütterung dauerte vom 14. 5. 1938 bis zum 5. 7. 1938. Wie auch Großfeld und Kanitz beobachteten, ließ die Legetätigkeit mit zunehmender Dauer der Fütterung sichtlich nach und erlosch ganz am 29. 6. 1938. Die Legeleistung der Hühner wurde aus der Gesamtlegeleistung als Durchschnittswert pro Tier und Woche berechnet und in folgender Tabelle aufgezeichnet:

Zeit	Zahl der Hühner	Gesamtzahl der gelegten Eier	Anzahl pro Huhn und Woche
8. 5.—14. 5.	6	10	1,67
15. 5.—21. 5.	6	19	3,17
22. 5.—28. 5.	6	4	0,666
29. 5.— 4. 6.	6	4	0,666
5. 6.—11. 6.	5	3	0,6
12. 6.—18. 6.	5	2	0,4
19. 6.—25. 6.	5	5	1
26. 6.— 2. 7.	4	2	0,5
3. 7.— 9. 7.	4	0	0

Es ist auffallend, daß in der ersten Woche nach Beginn der Zwangsfütterung, d. h. in der zweiten Woche der Tabelle, die Legeleistung stark ansteigt. Dieser hohe Wert kommt wohl dadurch zustande, daß die Hühner, die erst am 6. 5. ihren Stall bezogen hatten, sich in der ersten Woche noch nicht an ihre neue Umgebung gewöhnt hatten. In der zweiten Woche waren dann einerseits die Versuchstiere eingewöhnt, andererseits wirkte sich der verfütterte Sudanfarbstoff, wie sich auch an den untersuchten Eiern zeigte, noch nicht voll aus. Ein anderer Mangel der Tabelle liegt darin, daß das hier willkürlich gewählte Zeitmaß von 7 Tagen nicht dem physiologischen Aufbau und auch nicht der Jahreskurve der Legetätigkeit gerecht wird. Dennoch bietet die hier absichtlich gewählte Aufstellung ein anschauliches Bild vom schnellen und starken Absinken der Legeleistung, nachdem der Farbstoff eine Woche zwangsweise verfüttert und im Körper der Versuchstiere eine gewisse Kumulation eingetreten war.

Großfeld und Kanitz, die ebenfalls ein Aufhören der Legetätigkeit ihrer Versuchstiere beobachteten, führen diese Erscheinung auf das verfütterte Erdnußöl und eine daraus hervorgehende Verfettung der Hühner zurück. Ich möchte im Gegensatz dazu aus dem raschen Absinken der Legeleistung, sowie aus dem Umstand, daß die Versuchstiere im Verlauf der Zwangsfütterung sichtlich in Gewicht zurückgingen, schließen, daß hier nicht die 2 ccm Erdnußöl, sondern die 100 mg Sudan pro Tag die Tiere ungünstig beeinflußten; und zwar ist der ungünstige Einfluß nur im Sinne einer Giftwirkung denkbar. Unter der toxischen Einwirkung des verfütterten Sudanfarbstoffes geht demnach die Legeleistung erst rapid, dann langsam bis zum Aufhören der Legetätigkeit zurück.

Zwei Versuchstiere, die stark abgemagert waren, und wochenlang durch Teilnahmslosigkeit und kraftlose Bewegungen auffielen, gingen im Verlauf der Fütterung ein, und zwar am 8. 6. und 1. 7., d. h. 25 bzw. 47 Tage nach Beginn der Zwangsfütterung. Die Obduktion beider Tiere ergab übereinstimmend folgenden Befund:

Nach Entfernung der Federn schimmert das Unterhautfettgewebe durch die intakte an sich farblose Haut kräftig rot durch, so daß das ganze Tier dunkelrot aussieht. Außer dem Unterhautfettgewebe sind auch die Fettlager zwischen der Muskulatur und im Bauchfell leuchtend rot gefärbt. Am Herzen treten besonders die sulci coronarii als hellrote Streifen hervor. Herzmuskel, Gehirn, Leberparenchym und Lunge sind makroskopisch ohne Farbablagerungen. Die Eierstöcke zeigen massenhaft Follikel, die bis zu 2 mm Durchmesser haben. Ein Teil derselben ist stark rot gefärbt. Auch die farblosen Follikel zeigen bei genauerem Betrachten eine feine

rote Zeichnung, die scheinbar oberflächlich in der Follikelhaut liegt. Nach Auslösen einiger Follikel erkennt man, daß besonders das bindegewebige Stroma des Eierstocks deutlich rot gefärbt ist. Zerquetscht man einen Follikel, so wird ersichtlich, daß der Inhalt des Follikels farblos ist. Die Sudanfärbung liegt demnach nur in der Hülle des Follikels und im Stroma des Eierstocks.

Zur chemischen Untersuchung wurden 40 Follikel von 1—2 mm Größe aus den Eierstöcken isoliert und sofort feucht gewogen. Das Gesamtgewicht betrug 170 mg. Daraus ergibt sich ein Durchschnittsgewicht von 4,25 mg pro Follikel. Die 40 Follikel wurden dann mit 1 ccm Alkohol und einigen ccm Aether versetzt und gut durchgeschüttelt. Nach einigen Stunden war, obwohl die Follikelhäute zum Teil deutlich rot gefärbt waren, noch keine Verfärbung des Alkoholäthergemisches festzustellen. Die Follikel wurden dann mit einem Glasstab zerkleinert und ausgequetscht. Das Extraktionsgemisch zeigte bald eine schwachgelbrote Verfärbung, die gegen salpetrige Säure beständig war, aber wegen ihrer schwachen Ausbildung kolorimetrisch nicht bestimmbar war. Der extrahierte Sudanfarbstoff stammte nicht aus dem Follikelinneren, sondern aus den Follikelhäuten.

Der einmal im Körperfett abgelagerte Farbstoff kann ohne gleichzeitigen Abtransport des Fettes nicht mehr ausgeschieden werden. Das bedeutet, daß der größte Teil der Fettdepots einer mit Sudan gefütterten Henne lebenslänglich hellrot gefärbt bleibt. Derartige Tiere werden aber vom Verbraucher als Nahrungsmittel stets abgelehnt werden. Der Sudanfarbstoff schädigt also nicht nur das lebende Huhn, sondern macht auch das geschlachtete Huhn für den Genuß praktisch unbrauchbar, ohne daß hier die lebensmittelrechtliche Frage erörtert werden soll.

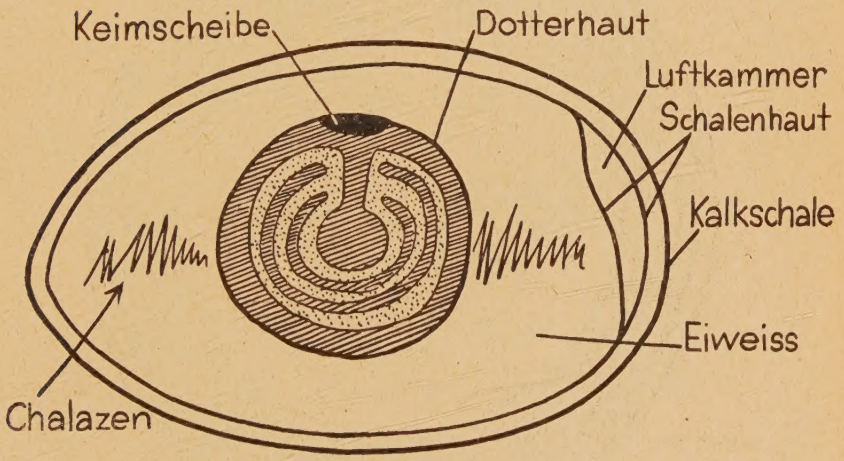
Aufarbeitung der gelegten Eier.

Zwecks Untersuchung auf Farbstoff wurden die Eier 15 Minuten lang gekocht, dann wurden Kalkschale und Eiweiß entfernt; anschließend wurde mit einer Rasierklinge ein Querschnitt durch den Dotter senkrecht durch die Mitte der Keimscheibe gelegt. Der Farbstoff wurde aus einer oder beiden Dotterhälften erschöpfend mit Alkohol und Aether extrahiert und nach Behandlung mit salpetriger Säure kolorimetrisch quantitativ bestimmt. Es erwies sich als unzweckmäßig, die Eier durch Einlegen in Formalin zu fixieren, weil dadurch die einzelnen Farbschalen ihre scharfe Grenze verloren.

Hier soll kurz auf den allgemeinen Bau des Dotters eingegangen werden. Das Eigelb besteht aus einer Anzahl konzentrischer Scha-

len, die bei der Dotterbildung nacheinander angesetzt werden, so daß die äußerste die jüngste ist, was durch die Sudanfütterungsversuche noch einmal bewiesen wurde. Die erwähnten Schalen bestehen abwechselnd aus weißem Bildungsdotter und gelbem Nahrungsdotter. Das Zentrum des Dotters wird von weißen Bestandteilen eingenommen, ebenso die äußerste Schicht. Weißer Kern und weiße Peripherie sind durch einen weißen Stiel miteinander verbunden. Dieser Stiel trägt die peripher liegende Keimscheibe. Diesen Aufbau kann man an jedem frischen Ei beobachten, wenn man es zur Fixierung 15 Minuten lang kocht und dann senkrecht zur Keimscheibe schneidet. Selbstverständlich werden Eier, die wenig natürlichen gelben Dotterfarbstoff enthalten, die konzentrische Schichtung nicht so deutlich zeigen. Bei Eiern, die länger gelagert sind, z. B. Kühlhauseier, erscheint der Dotter als mehr oder weniger homogene Masse ohne die feinere Struktur.

Skizze des normalen Dotteraufbaues.
nach Großfeld, Handbuch der Eierkunde.



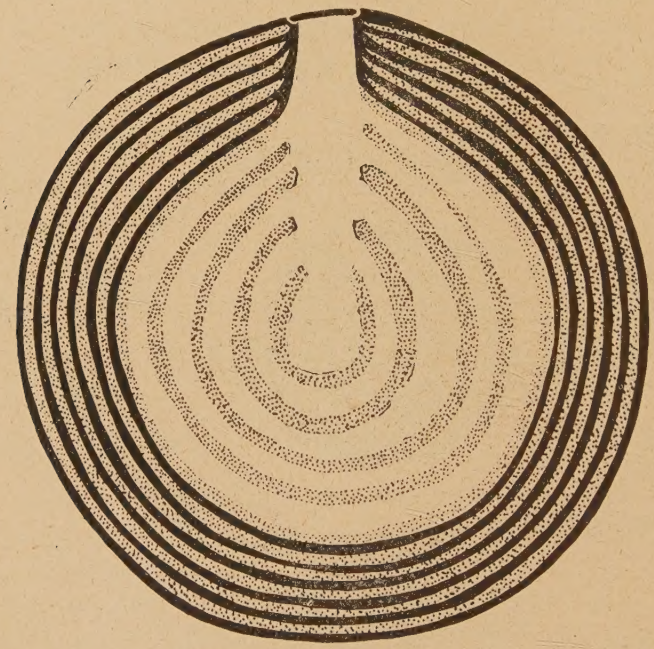
||||||| = Weißer Dotter
:::::: = Gelber Dotter

Nach neueren Untersuchungen von Conrad, Ralph und Warren können die Begriffe Bildungs- und Nahrungsdotter nicht mehr aufrecht erhalten werden. Denn wenn Hühner eine gleichmäßige Nahrung erhielten, wurden im Dotter der Eier keine abwechselnden weißen und gelben Schichten gefunden. Diese Schichten traten jedoch immer auf, wenn das zu verschiedenen Tageszeiten

gereichte Futter einen verschiedenen Xantophyll-Gehalt gehabt hatte. Die weiße und gelbe Schichtung der Dotter hängt also nicht mit dem Stoffwechsel zusammen.

Am 17. 5. 38, 3 Tage nach Beginn der Zwangsfütterung, wurde der erste Sudanfarbstoff in einem von den Versuchstieren gelegten Ei gefunden, und zwar war die äußerste Schicht des Dotters rot angefärbt. Der Gehalt an Sudanfarbstoff wurde in diesem Fall nicht quantitativ bestimmt. Mit Fortschreiten der täglich einmal vorgenommenen Sudanfütterung erschienen von Tag zu Tag konzentrische Farbschalen in größerer Anzahl in den Dottern, und zwar entsprechend dem Bildungsgang des Eigelbs von der Peripherie zum Zentrum fortschreitend. Eine rote Schale in der folgenden Skizze entspricht also einem Tag mit einer Zwangsfütterung mit Sudan B.

Schnitt durch ein Eidotter vom 21. 5. 38.

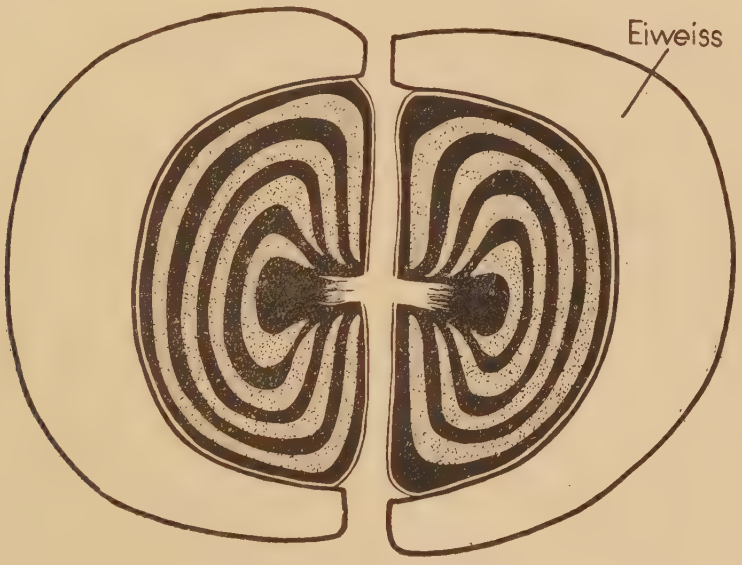


Nach einem Farbfoto, schematisch.

Am 21. 5. 38, am 7. Tag nach Beginn der Zwangsfütterung, ergab sich folgender Befund: Nach Entfernen der Eiweißhülle erscheint der Dotter als stark rotgefärbte Kugel mit einem weißen Fleck von etwa 2 mm Durchmesser, der Keimscheibe. Es wird eine Schnitt-

ebene senkrecht durch die Keimscheibe gelegt. Von der Keimscheibe geht ein weißer Zapfen bis zum zentralen weißen Dotter. In den mittleren Partien des Eigelbs wechseln weiße und gelbe Schichten gut ausgeprägt konzentrisch ab, in der Peripherie scharf begrenzt konzentrisch 6 gelbe und rote Schichten. Die äußerste Schicht ist rot.

In der Folgezeit rückten die roten Farbschalen immer mehr an das Zentrum des Eidotters heran. Frei von Sudanfarbstoff blieb aber in jedem Fall die Keimscheibe. In mehreren Fällen war auch das zentrale Weiß durch den Farbstoff rot bezw. rosa angefärbt, so in Eiern, vom 31. 5. 38, 3. 6. und 6. 6. 38, wie folgende Skizze zeigen soll.



Ei vom 6. 6. 38. Beide Hälften. Nach einem Farbfoto.

Allerdings handelt es sich hier durchweg um angebrütete Eier, und es besteht durchaus die Möglichkeit, daß in den Anfangsstadien der Keimentwicklung ein Umbau im Dotter stattgefunden hat, besonders weil ein Ei vom 16. 6. 38, welches nicht bebrütet wurde, wieder einen farblosen Kern aufwies. Doch ließ sich diese Frage nach dem vorhandenen Material nicht endgültig entscheiden.

Aus einer Anzahl der verarbeiteten Eier wurde der Farbstoff mit Alkohol und Aether erschöpfend extrahiert und der natürliche Dotterfarbstoff in der von Großfeld und Kanitz angegebenen Weise durch salpetrige Säure in statu nascendi zerstört. Die so

meßbare Menge Sudanfarbstoff wurde kolorimetrisch durch Vergleich mit einer Standardlösung ermittelt. Die Resultate sind in folgender Tabelle aufgeführt. In der Tabelle ist verzeichnet, das Legedatum, die Dauer der Farbstoffgabe und die Menge Sudanfarbstoff, die jeweils in dem einzelnen Ei abgelagert war, in mg. In der letzten Spalte findet sich ein Hinweis auf die Farbqualität der in den verschiedenen Eiern beobachteten roten Farbringe. Es war nämlich aufgefallen, daß die Farbschalen in manchen Eiern tiefrot, in manchen hellrosa aussahen.

Legedatum	Dauer d. Sudan-fütterung 100 mg	Farbstoff-menge in mg	Tiefe der Farbe
21. 5. 38/2	7 Tage	1,333	tiefrot
21. 5. 38/3	7 Tage	1,315	tiefrot
26. 5. 38	12 Tage	0,188	hellrosa
3. 6. 38	20 Tage	0,132	hellrosa
5. 6. 38	22 Tage	0,1	hellrosa
6. 6. 38	23 Tage	0,194	hellrosa
10. 6. 38	27 Tage	1,356	tiefrot
16. 6. 38	33 Tage	0,905	tiefrot

Der Farbstoffgehalt der Eier steht also in keinem direkten Verhältnis zur Dauer der Zwangsfütterung. Ferner fällt auf, daß in allen Fällen, in denen die Farbringe hellrosa waren, der Sudanrotgehalt der Eier außerordentlich gering ist. Die höchste Menge des von Großfeld und Kanitz gefundenen Sudanfarbstoffes im Ei lag bei 0,659 mg. In meinem Versuch wurde in 3 Fällen aber mehr als das Doppelte gefunden.

Von den täglich zugeführten 100 mg Sudanfarbstoff lagert die Henne nur einen verschwindend kleinen Teil in ihren Eiern ab. Wie ferner die Kotaufarbeitung von Kanitz und Großfeld zeigte, werden im Kot nur etwa 3% des zugeführten Farbstoffes ausgeschieden. Auch im Körperfett der Versuchstiere ist nach Untersuchungen von Großfeld und Kanitz nur eine verhältnismäßig geringe Menge Sudan abgelagert. Der größte Teil des zugeführten Farbstoffes wird demnach im Verdauungskanal der Versuchstiere zerstört. Einer späteren Arbeit ist die Untersuchung vorbehalten, wie sich der Sudanfarbstoff bei Umgehung des Verdauungskanales durch parenterale Zufuhr verhält.

Da die Hühner nach 48tägiger Farbstoffzufuhr ihre Legetätigkeit eingestellt hatten, wurde die Zwangsfütterung abgesetzt. 13 Tage nach Absetzen der Zwangsfütterung begannen sie wieder zu legen.

Die dann gelegten Eier wurden zu einem Teil auf Farbstoff untersucht. Nachstehende Tabelle führt einige Eier an, die 12—14 Tage nach Aufhören der Zwangsfütterung von demselben Hühnervolk gelegt wurden.

Legedatum	Ende der Zwangsfütterung	Farbstoff-befund
17. 7. 38	5. 7. 38	—
17. 7. 38	5. 7. 38	—
20. 7. 38	5. 7. 38	—

Demnach verwendet das Huhn nur den mit der Nahrung zugeführten Farbstoff zur Anfärbung des Dotters, nicht aber den bereits im Körper abgelagerten. Dieselbe Beobachtung wurde von Kupsch und Römmele gemacht.

Wie oben schon erwähnt wurde, fiel bei Bearbeitung der Farbstoffeier auf, daß die Farbschalen in manchen Eiern tiefrot, in anderen dagegen hellrosa waren. Es wurde anfangs vermutet, daß dieser Unterschied durch die Bebrütung hervorgerufen wurde. Im weiteren Verlauf der Versuche stellte sich jedoch heraus, daß es nur quantitative Unterschiede waren.

Betrachten wir 3 am 21. 5. 38 gelegte Eier: Das erste wurde 5 Tage bebrütet; seine Farbschalen waren rosa. Das zweite wurde 12 Tage bebrütet und erwies sich als tiefrot; das dritte wurde ohne Bebrütung untersucht und war ebenfalls tiefrot. Ein anderes Ei vom 16. 6., ebenfalls nicht bebrütet, wies sogar tiefrote und hellrosa Farbringe nebeneinander auf. Daraus muß man wohl schließen, daß es sich bei den Farbunterschieden nicht um eine fermentative Veränderung des Sudanfarbstoffes bei der Bebrütung handeln kann.

Zwei weitere Tatsachen brachten in diesem Punkte Aufklärung. Eier, die an ein und demselben Tage gelegt wurden, wiesen zum Teil rote, zum Teil rosa Farbschalen auf. Am 17. 5. 38 waren von 4 gelegten Eiern 2 tiefrot, 2 hellrosa. Am 18. 5. 38 wurden 2 Eier mit roten und 1 Ei mit rosa Farbschalen gelegt. Die zweite Tatsache läßt sich unschwer aus der Farbtabelle ablesen: Alle Eier mit rosa Farbschalen enthalten nur geringe Mengen Sudan, im Gegensatz zu denen mit tiefroten Schalen.

Demnach ist der Unterschied rot — rosa rein mengenmäßig bedingt. Und da an ein und demselben Tag beide Arten erhalten wurden, kann die Verschiedenheit nur durch unterschiedliches Verhalten der einzelnen Hühner dem Sudanfarbstoff gegenüber zustande kommen; d. h. die eine Henne resorbiert viel Sudan aus ihrem Ver-

dauungskanal und lagert entsprechend viel in ihren Eiern ab, legt also Eier mit tiefroten Farbschalen. Dagegen nimmt die andere Henne nur wenig auf und gibt entsprechend wenig an die Eier weiter, legt also Eier mit hellrosa Farbschalen. Man könnte sich vorstellen, daß die in den Eiern abgelagerten Farbstoffmenge im umgekehrten Verhältnis steht zur Widerstandskraft der Hühner gegenüber dem Sudan.

Bebrütungsversuche.

Zum Zwecke der Bebrütung wurden die den Sudanfarbstoff enthaltenden Eier fortlaufend sofort in einen elektrischen Brutschrank gelegt, denn die Sterblichkeit der Huhnembryonen wächst mit zunehmender Dauer der Lagerung der Eier vor dem Bebrüten. L. K a u f m a n n beobachtete bei Eiern, die 1—7 Tage gelagert hatten, ein Schlupfergebnis von 70 % der bebrüteten Eier. Bei 21—27tägiger Lagerung sank der Wert auf 44 %, während nach 28—34tägiger Lagerung der Eier nur 32 % Küken erhalten wurden.

In einer ersten Versuchsreihe wurden 14 Sudanfarbstoff enthaltende Eier, die durchschnittlich 3—4 Tage gelagert hatten, verschieden lange Zeit in einem elektrischen Brutschrank mit eingebautem Thermometer bei einer Temperatur von 37,5—38° bebrütet. Für genügend Feuchtigkeit in der Atmosphäre des Schrankes wurde gesorgt. Die Eier wurden täglich gewendet und etwa 10 Minuten lang belüftet und abgekühlt. Nachdem noch ein Tropfen angewärmten Wassers auf jede Eikuppe gebracht war, wurde die Bebrütung fortgesetzt. Nach 3, 5, 8, 12 und 16 Tagen wurde jeweils ein Teil der Eier herausgenommen und untersucht. Bei den 14 Eiern, die z. T. direkt, z. T. nach vorherigem, 15 Minuten langem Kochen geöffnet wurden, wurde in keinem Fall eine Entwicklung der Keimscheibe bis zu einem der Dauer der Bebrütung entsprechenden Entwicklungsstadium beobachtet. Die Keimscheiben waren in 10 Fällen überhaupt nicht gewachsen; in 4 Eiern nach 6—8stündiger Entwicklung abgestorben.

Um unter allen Umständen eine Schädigung der Keime durch Wärme auszuschließen, wurde in einer weiteren Versuchsreihe die Bebrütung bei einer Temperatur von 34,5 bis 35° Celsius durchgeführt. Die Behandlung der zu diesem Versuch angesetzten 19 Eier war, von der Temperatur abgesehen, dieselbe wie in der ersten Versuchsreihe.

8 Eier wurden nach 2—4tägiger Bebrütung herausgenommen und untersucht, zum Teil direkt, zum Teil nach vorheriger Fixierung

durch Kochen. In 4 Fällen war überhaupt keine Entwicklung eingetreten. In 2 Fällen war die Keimscheibe bis zu einem Stadium ensprechend 12stündiger Entwicklung gewachsen, dann aber abgestorben. In einem Ei, das nach 2½tägiger Bebrütung ohne Fixierung durch Kochen untersucht wurde, hatte die Entwicklung der Keimscheibe ein Stadium erreicht, das etwa 48stündigem Wachstum entsprach. Es ist dies der einzige Fall, in dem ein lebender Embryo beobachtet wurde. Das Herz des Keimlings zeigte noch eine Zeitlang nach Eröffnung der Kalkschale pumpende Bewegung. Im achten Ei, das nach 3½ Tage ohne vorheriges Fixieren geöffnet wurde, hatte die Keimscheibe dasselbe Entwicklungsstadium erreicht, war aber bereits abgestorben. Auch hier war also die Entwicklung nach etwa 2 Tagen zum Stillstand gekommen.

4 weitere Eier wurden nach 5—8 Tagen ohne vorheriges Kochen untersucht. 2 waren ohne jede Entwicklung. Bei 2 weiteren war die Keimscheibe nach 12—24stündigem Wachstum abgestorben.

Die restlichen 7 Eier wurden nach 12- bezw. 17tägiger Bebrütung untersucht. In 4 Fällen wurde überhaupt keine Entwicklung beobachtet. In 3 Eiern war die Entwicklung der Keimscheibe nach etwa 24stündigem Wachstum zum Stillstand gekommen.

Fassen wir das Ergebnis dieser Versuchsreihe zusammen: Von 19 Eiern waren 10 ohne jede Entwicklung. In 7 Fällen war die Keimscheibe nach 12—24stündigem Wachstum abgestorben, in 2 Eiern war die Entwicklung 48 Stunden vorangegangen, aber dann stehen geblieben, bezw. im Begriff stehen zu bleiben.

Der Ausfall dieser Versuchsergebnisse machte wahrscheinlich, daß eine Schädigung der Eier durch den Sudanfarbstoff vorlag, wobei jedoch noch ein Fehler in der Bebrütung oder eine primäre Schädigung des Keims durch Huhn oder Hahn auszuschließen war. Es wurde auch aus diesem Grunde die Zwangsfütterung am 5. 7. 38 abgesetzt. 20 Eier, die dann von demselben Hühnervolk in der Zeit vom 20. bis 30. 7. 38 gelegt wurden, und die nachweislich keinen Sudanfarbstoff mehr enthielten, wurden zur Kontrolle unter denselben Bedingungen wie Versuchsreihe 2, d. h. bei 34,5 bis 35° Celsius bebrütet.

In dieser dritten Versuchsreihe schlüpften nach 20- bis 22tägiger Bebrütung 7 Küken aus. 2 Embryonen starben, voll ausgebildet, kurz vor dem Schlüpfen. 6 Eier wurden nach 14—19tägiger Bebrütung untersucht. In jedem Fall wurde ein lebender Keimling vorgefunden, dessen Entwicklung der Dauer der Bebrütung entsprach. 2 Eier zeigten keine Entwicklung der Keimscheibe. Die restlichen 3 enthielten abgestorbene Keimlinge, deren Entwicklung einem Wachstum von 10—15 Tagen entsprach.

Durch diese Ergebnisse wurde bewiesen, daß das Absterben, resp. die Nichtentwicklung der Keimscheiben dem Sudanfarbstoff zuzuschreiben ist: Der an die Hühner verfütterte und in den Eiern abgelagerte Sudanfarbstoff vernichtet die Keimfähigkeit der Eier. Dabei kommt einmal die Entwicklung der Keimscheibe durch direkte Einwirkung des im Dotter liegenden Farbstoffes überhaupt nicht in Gang, oder der Embryo wird in den Anfangsstadien seiner Entwicklung durch Sudanfarbstoff, den er aus dem Dotter zusammen mit Nahrungsstoffen aufgenommen hat, abgetötet. Die Anfärbung des gesamten Körperfettes hat keine Einwirkung auf die Keimfähigkeit der Eier.

Hinsichtlich der Beurteilung von mit Sudanfarbstoffen im Dotter gefärbten Hühnereiern kann somit als erwiesen angesehen werden, daß der Farbstoff „Sudan Rot B besonders rein" an sich auch schon in sehr kleinen Mengen keimschädigend und damit gesundheitsschädlich wirkt. Wenn auch die in einem sudangefärbten Eidotter enthaltene Menge zu gering sein mag, um beim Verzehr durch den Menschen sofort sichtbaren Gesundheitschaden hervorzurufen, so besteht doch keine Veranlassung, einen giftig wirkenden Stoff in einem so verbreiteten Lebensmittel zu dulden, wie es das Hühnerei darstellt, zumal diese Dotterfärbung zur Vortäuschung einer volleren Naturfärbung vorgenommen wird, also eine Verfälschung ist. Noch bedenklicher ist die Anfärbung des Fettgewebes im Körper der Legehenne. Die hier angehäuften Farbstoffmengen sind relativ und absolut genommen größer als im Eidotter. Das geschlachtete Tier ist also nicht allein wegen seiner unnatürlich roten Farbe, sondern auch wegen seines Gehaltes an einem schädlich wirkenden Bestandteil, dessen Unschädlichkeit jedenfalls in der in Frage kommenden Menge nicht erwiesen ist, nicht mehr als Nahrungsmittel verwendbar, also verdorben.

Zusammenfassung.

1. Die mit Sudan gefütterten Hühner werden für den Genuß unbrauchbar.

2. Der Sudanfarbstoff wirkt bei einer Gabe von 100 mg pro Tag giftig für die Versuchstiere. Die Legetätigkeit der Hühner wird bei dieser Dosierung herabgesetzt und in kurzer Zeit zum Aufhören gebracht.

3. Der in den Dottern abgelagerte Sudanfarbstoff vernichtet die Keimfähigkeit der Eier, entweder direkt, so daß die Entwicklung der Keimscheibe gar nicht in Gang kommt, oder durch den in den Anfangsstadien der Keimentwicklung zusammen mit Nahrungsstoffen aufgenommenen Sudanfarbstoff, so daß die Entwicklung der Keimscheibe nach 1—2 Tagen zum Stillstand kommt.

4. Die Anfärbung des Körperfettes hat keinen Einfluß auf die Keimfähigkeit der Eier.

5. Eine Untersuchung des Fettstoffwechsels des Huhnembryos ist mit Hilfe der vitalen Dotterfärbung durch Verfütterung von Sudanfarbstoffen an die Hühner nicht möglich, da die Keimfähigkeit der Hühnereier vernichtet wird.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. H. Zeiß, für die Ermöglichung dieser Arbeit und seine ganz besonders fördernde und tatkräftige Unterstützung zu danken.

Herrn Dr. Kanitz danke ich für die Anregung zu diesen Untersuchungen und seine Hilfe bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Schrifttum.

Hammar: Ueber Vitalfärbung sowie hormonale und humorale Beeinflussung des wachsenden Vogelembryos im Ei. Arch. f. mikr. Anat. 98 (1923).

Kopsch: Primitivstreifen und organbildende Keimbezirke beim Hühnchen untersucht an vital gefärbten Keimen. Zeitschr. f. mikr. anat. Forschg. Bd. 8, 1927.

Graeper: Die Methode der stereokinematographischen Untersuchung des lebenden vitalgefärbten Huhnembryos. Arch. Entw. mechan. 115, 523 (1929).

Henderson, E. W. and Wilke, H. L.: Effect of ration on yolk color. Poultry Science, Vol. VII, Nr. 4, 1933.

Roemele: Die Beeinflussung der Dotterfarbe durch die Fütterung. Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. H. 8, 1934.

Großfeld, J. und Kanitz, H. R.: Ueber den Nachweis von Teerfarbstoffen im Hühnerei. Ztschr. f. Unters. d. Lebensmittel, 69, 6.

Kupsch, W.: Die Veränderung und Wertbestimmung der Eidotterfarbe.

Hosol, Keizo: Ueber die Gesamtmenge der organischen Säuren im frischen und bebrüteten Hühnerei. Jap. J. med. Sci., Trans II Biochem. **3**, 249—256.

Großfeld, J. und Kanitz, H. R.: Versuche über künstliche Färbung von Hünereidottern durch Fütterung. Ztschr. f. Untersuchung der Lebensmittel. 74, 6.

Yosida, Syniti: Ueber den Gesamtbasengehalt der frischen und bebrüteten Hühnereier. Jap. J. med. Sci., Trans II. Biochem. **3**, 241 bis 247.

Kaufmann, Laura: Entwicklung und Wachstum von Hühnerembryonen in frischen und gelagerten Eiern. Arch. f. Geflügelkunde **12** (65—77).

Pighini, Giacomo: Auswirkungen von Hypophysenvorderlappeneinpflanzungen auf die Entwicklung des Huhnembryos. Biol. Ber. A, **45**, 472.

Kobayashi, Shigeo: Studien über den Einfluß der Zellbestandteile endokriner Organe auf die Entwicklung des Huhnembryos und des Huhns. Biol. Ber. A **45**, 471.

Großfeld, J.: Handbuch der Eierkunde.

Conrad, Ralph und Warree: The alternate white and yellow layers of yolk in hen's ova. poultry Sci. 18, 220—224.

Lebenslauf.

Ich, Alfred Aßhoff, evangelischer Konfession, wurde am 31. Mai 1914 in Dortmund-Wellinghofen als Sohn des Gerichtstaxators Heinrich Aßhoff und seiner Ehefrau Hulda, geb. Lutter, geboren. Von Ostern 1920—1924 besuchte ich die Grundschule in Dortmund-Holtbrügge; anschließend das Städt. Realgymnasium zu Dortmund-Hoerde, das ich Ostern 1933 nach bestandener Reifeprüfung verließ.

Meine vorklinischen Semester verbrachte ich in Marburg. Vor dem Marburger Prüfungsausschuß legte ich im März 1934 den ersten und im Februar 1936 den zweiten Teil der ärztlichen Vorprüfung ab.

Im Sommer 1935 genügte ich vom 1. April bis zum 1. Oktober der studentischen Arbeitsdienspflicht. Am 1. Oktober 1936 trat ich als Dienstpflichtiger bei der 4./A. A. 3, Stahnsdorf, in die Wehrmacht ein. Zum 1. 4. 1937 wurde ich in die militärärztliche Laufbahn übernommen und zur Militärärztlichen Akademie versetzt.

Von meinen klinischen Semestern verbrachte ich das erste in Freiburg, die restlichen vier in Berlin. Die ärztliche Staatsprüfung legte ich vor dem Berliner Prüfungsausschuß ab.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

Meerwein, Schulze, Alverdes, Claussen, Dabelow, Göppert, Zeiger, Jacobshagen Dittler, Rehn, Jahn, Killian, Sauerbruch, Rostok, Franz, Siebeck, von Bergmann, Wagner, Stöckel, Löhlein, von Eicken, Bessau, Friboes, Bonhoeffer, Zeiß, Sartorius, Lenz, Müller-Heß, Heubner, Rößle, Schürmann, Waldeyer.

Ihnen allen bin ich zu Dank verpflichtet.